



Un demi-siècle de génétique avec le pneumocoque

L'une des plus redoutables bactéries, le pneumocoque, tuait au début du siècle aux États-Unis plus de 50000 personnes par pneumonie tous les ans. Elle représentait la cause majeure de décès par maladies respiratoires, avant la tuberculose [1]. Aucun sérum ou vaccin ne pouvait être préparé, en raison du grand nombre de sérotypes (plus de 80).

Les fondateurs

Ce fut la raison pour laquelle Avery fut recruté pour diriger un programme de recherche sur la virulence du pneumocoque à l'hôpital Rockefeller. En 1923, Griffith observa que le pneumocoque virulent possédait une capsule donnant aux colonies l'aspect lisse (*smooth*). La perte héréditaire de la capsule entraînait la perte de la virulence, et les colonies prenaient un aspect rugueux (*rough*). Avec Heidelberger, Avery montra que la capsule était un polysaccharide et non une protéine ou un complexe de molécules diverses [2]. Peu après, Griffith découvrit que l'on pouvait transformer *in vivo* les souches R par des souches S tuées par la chaleur [3]. Mais il était alors impossible d'interpréter cette observation en l'absence de toute notion sur le matériel génétique des bactéries; ce n'est qu'en 1944 qu'Avery montra que le matériel héréditaire était l'ADN [4]. Pour que cette découverte, point de départ de la biologie et de la génétique moléculaire se généralisât, il fallut attendre encore neuf ans: en 1953,

Watson et Crick définirent la structure de l'ADN, expliquant ainsi les propriétés de répllication et de mutation de cette molécule [5]. Avery disparut en 1955 sans avoir obtenu le prix Nobel qu'il aurait mérité. Évidemment le scepticisme du biochimiste Mirsky, qui n'avait pas apprécié à leur juste valeur les travaux d'Avery, influença sans doute négativement le jury de ce prix prestigieux [6]. On niait encore en 1951 l'utilisation du concept de gène chez les bactéries, « puisqu'on ne peut pas montrer le résultat d'un croisement hybride » comme dans les lois de Mendel [7].

Les microbes allaient devenir l'instrument essentiel de la compréhension de la vie au travers de la structure du gène et des chromosomes, des mécanismes de l'expression des gènes par ARN et protéines interposés, de la régulation de ces synthèses, de la recombinaison, de la transposition, de la mutation, et enfin de la réparation du matériel héréditaire. La génétique, après une quarantaine d'années consacrée aux eucaryotes, redémarrait.

La recombinaison

Les études de génétique faites sur les eucaryotes se heurtent au nombre limité de descendants, ce qui empêche de quantifier les phénomènes très rares, comme les recombinants à l'intérieur d'un gène, ou les mutations: c'est pourquoi, vers 1950, on considérait généralement que les *crossing-over* s'effectuaient entre les gènes, et que les

gènes étaient indivisibles. La manipulation d'un grand nombre de microorganismes et, surtout, la possibilité de sélectionner les événements rares, ont fait considérablement progresser les connaissances des mécanismes fondamentaux et, en particulier, en ce qui concerne la recombinaison.

En 1951, Harriett Éphrussi-Taylor (*figure 1*), découvrit ce qu'on a appelé par la suite la recombinaison intragénique [8]. Elle isola de nombreux mutants partiellement déficients dans la synthèse du polysaccharide. Dans une même classe phénotypique elle

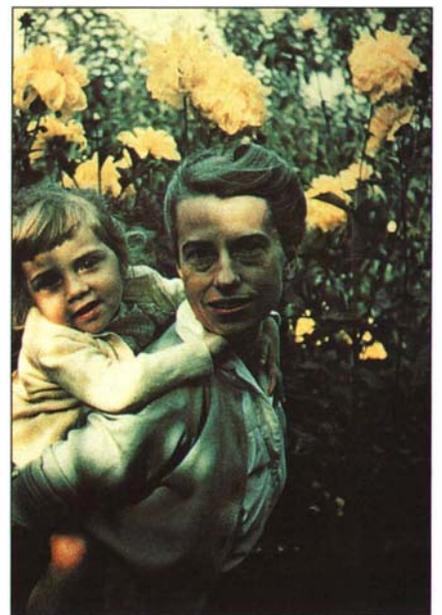


Figure 1. Harriett Éphrussi-Taylor (1918-1968).

obtint quatre mutants indépendants. Par transformations réciproques entre souches déficientes, elle put sélectionner de rares colonies ayant retrouvé une capsule normale, ce qui pouvait s'interpréter, en termes de génétique classique, par une recombinaison à l'intérieur d'un gène.

Bien avant que l'on puisse manipuler la molécule d'ADN, deux conceptions s'affrontaient pour expliquer la *crossing-over*. L'une n'envisageait qu'une coupure des chromatides suivie de réunion (*breakage and reunion*), l'autre supposait que la chromatide changeait de modèle en se recopiant, passant d'une chromatide à l'autre (*copy choice*) (figure 2). L'avantage de la seconde hypothèse était que cette synthèse d'ADN d'une matrice à l'autre expliquait aisément l'existence, chez les champignons, des ségrégations impaires 3:1 (conversions) au lieu des ségrégations habituelles 2:2. Le pneumocoque allait apporter une preuve claire en faveur de la première hypothèse. En effet, en 1960 Fox montrait que la recombinaison s'effectuait en l'absence presque complète de synthèse d'ADN [9]. Seul l'un des deux brins de l'ADN pénétrait puis venait s'apparier au chromosome récepteur [10]. Donc, dans la transformation tout au moins, l'ADN se recombinait par cassure et réunion. En outre, comme un seul brin donneur participait à la recombinaison, il était évident que l'étape indispensable à la recombinaison était un ADN hybride,

notion que proposeront, quelques années plus tard, des théoriciens de la recombinaison pour expliquer conversion et *crossing-over* chez les champignons ascomycètes.

Il est évident que la plupart de nos connaissances des étapes et des enzymes de la recombinaison proviennent de travaux chez *E. coli*. Cependant, le pneumocoque a apporté dans ce domaine quelques contributions ponctuelles à partir d'observations d'anomalies de la recombinaison. En construisant la carte fine de la région du génome qui contrôle la résistance à l'aminoptérine, nous avons constaté qu'une mutation provoquait une augmentation du taux de recombinaison. Par l'analyse et la détermination de la séquence de petits fragments clonés, cette mutation a été localisée avec précision sur la carte génétique. En 1984, Lefèvre montra qu'il s'agissait de la mutation d'une seule base dans une séquence très spéciale, palindromique, qui se convertissait souvent en type sauvage au cours du mésappariement A/G [11]. Comme cette conversion portait sur moins de 20 bases, ce phénomène avait des éléments d'analogie avec le système *vsr* de réparation court, découvert par Lieb chez *E. coli* [12], et avec le système mut Y découvert simultanément par l'équipe de Modrich [13] et celle de Lu [14]. Une autre mutation provoquait aussi de l'hyper-recombinaison (plus de 10 fois). Mais, celle-ci était une délé-

tion. Cela posait le problème du mécanisme de recombinaison des longues hétérologies. Puisqu'elles transforment relativement bien, d'où vient cette apparition exagérée de type sauvage? Pasta a montré que souvent (20 % des cas) l'hétérologie est exclue de la recombinaison et la molécule d'ADN retourne ainsi au type sauvage, ce qui explique l'excès de transformants de type sauvage [15].

Réparation des bases mal appariées ou *mismatch repair*

Lorsque l'ADN contient une base mutée provenant d'une transition (Pu → Pu' et Py → Py') ou de la délétion ou de l'addition d'une à trois bases, cette anomalie est corrigée par l'excision de plusieurs milliers de bases et la copie corrective (figure 3). C'est encore l'étude du pneumocoque qui a fourni l'essentiel des faits et des explications, applicables aux autres bactéries et aux eucaryotes, d'un système général et important puisqu'il protège contre certains cancers. Le point de départ fut l'isolement par Harriet Éphrussi-Taylor en 1959 d'un mutant résistant à l'optochine qui transformait huit fois moins bien qu'un mutant de référence conférant la résistance à la streptomycine. Pour expliquer ce phénomène, elle supposa que ce marqueur était une longue délétion. Mais comment le prouver? Il n'y avait aucun moyen de faire une carte génétique à partir de divers mutants de résistance à l'optochine car l'on ne pouvait pas isoler de recombinants sensibles. Nous avons alors isolé une vingtaine de mutants résistants à l'aminoptérine par action de l'acide nitreux sur l'ADN, puis mis au point un milieu synthétique dans lequel ces mutants ne se multipliaient pas si l'on ajoutait un excès d'isoleucine [16]. On pouvait ainsi sélectionner des souches recombinantes de type sauvage. De plus, l'intérêt du système était qu'en pouvant sélectionner les mutants, d'une part, sur un milieu contenant de l'aminoptérine et, d'autre part, les sauvages sur un milieu synthétique additionné d'isoleucine. On pouvait

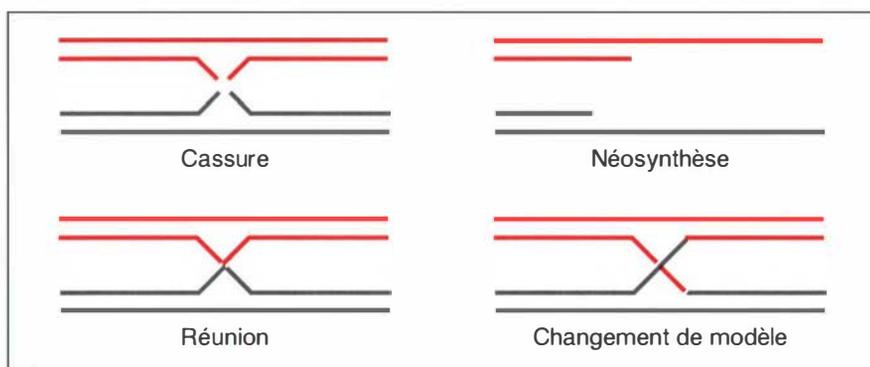


Figure 2. **Deux mécanismes de recombinaison.** À gauche, le *crossing-over* s'effectue par *breakage-reunion* entre chromatides, sans intervention de la réplication. À droite, les chromatides se recopient en changeant de modèle par *copy choice*: le *crossing-over* porte sur les chromatides néosynthétisés (traits hachurés).

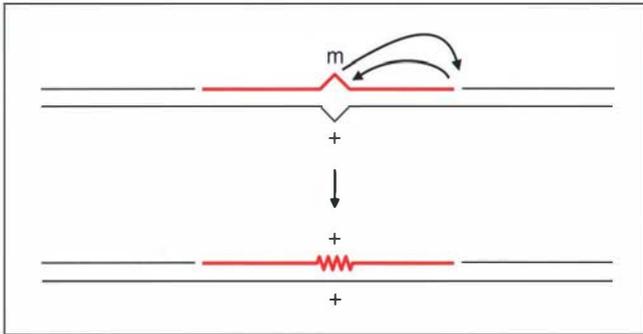


Figure 3. **Modèle d'excision des mutations provoquant des mésappariements (transitions et additions/délétions de 1 à 3 bases).** Le mésappariement résulte de la confrontation d'une base mutée (m) avec la base de type sauvage (+).

En trait fin est représenté l'ADN du chromosome récepteur, et en trait épais le fragment d'ADN donneur de plusieurs milliers de bases portant la mutation. Les protéines du système d'excision-réparation reconnaissent le mésappariement et migrent vers l'une ou l'autre extrémité du fragment donneur et l'élimineront (flèches). Une synthèse réparatrice prenant modèle sur le brin d'ADN récepteur reconstitue le chromosome de type sauvage faisant perdre la mutation dans 9 cas sur 10. Dans 1 cas sur 10 la séquence réceptrice de type sauvage serait excisée et la mutation intégrée, la copie de réparation s'effectuant en prenant le brin muté comme modèle.

ainsi tester si l'existence de délétions entraînait la mauvaise transformabilité de certains mutants. Les résultats ont montré que les mutants à faible efficacité n'étaient pas des mutants par délétions mais au contraire présentaient des mutations ponctuelles, probablement des transitions parce qu'induites par l'acide nitreux ou d'autres mutagènes de même catégorie [17]. Lacks obtint également le même type de résultats avec des mutants *mat* [18]. Il restait à comprendre pourquoi le pneumocoque éliminait l'ADN portant l'altération minimale, c'est-à-dire une transition, alors que des délétions moyennes transformaient fort bien. C'est Harriet Éphrussi-Taylor qui trouva la bonne explication.

Elle avait constaté en 1960 que les marqueurs à faible efficacité étaient dégradés dès la pénétration de l'ADN dans la cellule [19]. Par analogie avec la découverte des enzymes qui excisent et réparent les lésions sur l'ADN par les UV [20, 21], elle proposa en 1966 qu'un système de même type éliminerait l'ADN donneur portant une mutation à faible efficacité sur plusieurs milliers de bases, et que le vide serait comblé par une synthèse réparatrice [22]. Il est intéressant de noter qu'il fallut cinq ans entre l'observation de la des-

truction des marqueurs à faible efficacité et l'explication moléculaire. A cela deux raisons: il fallut éliminer l'hypothèse selon laquelle ces marqueurs seraient des délétions ou des insertions, et il fallut aussi que soit découvert en 1964 le système d'élimination des dimères de thymine. Les thèses de Louarn [23] et de Tiraby [24], l'isolement des premiers mutants incapables de reconnaître et d'éliminer ces bases mal appariées par Lacks en 1970 [25], puis par Tiraby ont confirmé l'interprétation de Harriet Éphrussi-Taylor qui, décédée en 1968, n'était plus là pour continuer ce travail.

Malgré cela, en 1973, Tiraby et Fox proposèrent que le système Hex n'agissait pas par excision-réparation mais plutôt par cassure double-brin du fait de la proximité d'une extrémité du brin donneur et d'une incision du brin récepteur à l'endroit de la base mésappariée [26]. A l'appui de ce modèle, ils observaient la disparition des marqueurs à faible efficacité en raccourcissant l'ADN donneur. Mais Guild et Shoemaker, proposant la même hypothèse et effectuant des expériences analogues, arrivèrent à la conclusion opposée [27]. Devant l'importance de l'enjeu pour comprendre le fonctionnement du système, Lefèvre et Claverys [28],

reprirent dans mon laboratoire ce type d'expériences et confirmèrent les conclusions de Guild et Shoemaker; ils confortèrent ainsi le modèle selon lequel l'enzyme d'excision reconnaît le mésappariement et migre aux extrémités de la molécule pour la dégrader.

L'isolement de mutants incapables de reconnaître les bases mésappariées constitue une preuve indispensable pour montrer qu'il existe au moins un gène contrôlant le processus d'excision-réparation. Il est intéressant de noter qu'en fait ces mutants étaient déjà connus depuis les travaux de Green et Ravin en 1959 [29]. Il fallut encore onze ans pour que Gasc et Claverys séquencent les premiers mutants et démontrent la spécificité du système [30, 31]. L'année d'après, Lacks confirma nos résultats [32]. Peu après, l'équipe de Modrich mit au point un système de réparation *in vitro* à partir d'extraits de *E. coli*, ce qui permit de définir les exigences et les étapes de la réparation [33].

Mais, avant de connaître le détail de fonctionnement du système d'excision-réparation des bases mal appariées, Tiraby fit la découverte importante que ce système ne se contentait pas d'agir au moment de la recombinaison mais qu'il éliminait avec efficacité les erreurs les plus fréquentes au cours de la synthèse répliquative de l'ADN (transitions et délétions d'une base) [34]. Il s'agissait donc d'un système antimutagène puissant dont on pouvait prévoir qu'il serait anticancérigène chez les eucaryotes. De fait, il fallut attendre 1993 pour découvrir que ces mêmes gènes qui protègent contre certaines mutations, protègent aussi contre certains cancers du côlon. Une vingtaine d'années auront donc été nécessaires pour passer de l'observation d'un phénomène « non banal », à l'explication moléculaire. Les applications médicales ont alors suivi. Bien sûr, au départ, personne ne pouvait imaginer travailler sur les mécanismes de cancérisation.

Des systèmes originaux

C'est chez le pneumocoque que fut découverte, en 1962, par Pakula en Pologne, une « hormone » produite

par un pneumocoque et un streptocoque qui induisait la compétence d'autres cultures non compétentes de la même espèce [35]; puis l'équipe de Morrison montra, en 1995, qu'il s'agissait en fait de deux hormones de 17 acides aminés, différentes selon les souches considérées [36]. En 1975, Lacks et Greenberg découvrirent une enzyme de restriction chez le pneumocoque (DpnI) qui coupait l'ADN méthylé [37]. Enfin, une autre particularité du pneumocoque était l'impossibilité d'obtenir des mutants par les UV ou par la carence en thymine [38]. Il était donc important que les recherches fondamentales ne se limitassent pas à quelques espèces modèles mais couvrirent un plus large spectre de bactéries.

Résistance aux β -lactamines

L'apport de l'étude du pneumocoque à la compréhension des mécanismes de résistance à la pénicilline G est loin d'avoir été négligeable, malgré le petit nombre de laboratoires travaillant dans ce domaine. C'est tout d'abord Hotchkiss [39] qui montra, en 1951, que plusieurs gènes indépendants concouraient, par leur accumulation, à la résistance vis-à-vis de cet antibiotique de souches obtenues en laboratoire (et cela 16 ans avant l'apparition des premières souches hospitalières très résistantes). En 1980, Hakenbeck *et al.* [40] relièrent la résistance du pneumocoque aux modifications de fixation de la pénicilline G aux *penicillin-binding proteins* (PBP). Leurs nombreux travaux montraient la généralité de cette relation. Presque toutes les souches cliniques isolées pour leur résistance aux β -lactamines présentent un profil des PBP modifié.

L'analyse des séquences de gènes de PBP provenant des souches cliniques résistantes à de fortes concentrations de β -lactamines, a montré que des segments entiers d'ADN provenant d'autres espèces bactériennes se sont insérés dans le génome de ces pneumocoques. Ce transfert « horizontal », découvert d'abord chez le gonocoque par Spratt [41] puis chez le pneumo-

coque par Dowson *et al.* [42], pourrait s'être effectué par transformation, mode naturel d'échanges génétiques de ces bactéries. Deux questions se posent : les PBP sont-elles les seules protéines cibles des pénicillines? Est-il exact que la PBP3 qui fixe fortement la pénicilline et qui n'est jamais modifiée dans les souches résistantes, ne joue aucun rôle dans la résistance?

Laible et Hakenbeck ont isolé au laboratoire toute une famille de souches résistantes à la céfotaxime à partir d'une seule souche sensible [43]. Une souche résistante a été utilisée pour déterminer quels sont les gènes qui ont muté pendant le processus de sélection progressive, et nous avons caractérisé trois niveaux de résistance en transformant la souche sensible par de l'ADN de la souche résistante [44]. Le premier niveau de résistance, dix fois plus élevé que celui de la souche sensible, correspond à la perte d'affinité de la PBP 2x pour la pénicilline G. L'analyse comparative du gène de structure de la PBP 2x des souches sensibles et des transformants a montré que des mutations ponctuelles à plusieurs sites dans ce gène pouvaient entraîner la réduction d'affinité et le premier niveau de résistance [45]. Le second niveau de résistance est dû à la PBP3. Grâce à des mutants de laboratoire dont la quantité de PBP3 est réduite, on a vu que l'acquisition du niveau élevé de PBP3 double la résistance [46]. Le troisième niveau, qui double encore la résistance, n'est pas dû à une modification de PBP mais à une mutation sur un système de transmission de signal à deux composants. Ce système, analysé par Guenzi *et al.*, comprend deux gènes adjacents : un gène régulateur activé par un gène senseur qui réagit aux signaux extérieurs par transphosphorylation [47]. Des protéines différentes des PBP participent donc à la résistance aux β -lactamines. Une observation « non banale » est que les mutations dans ce système bloquent totalement la compétence du pneumocoque.

Mais d'où viennent ces souches résistantes que l'on isole si souvent dans les hôpitaux? Sont-elles la proliféra-

tion d'un ou de quelques clones? La réponse était impossible à donner avant la mise au point de techniques d'analyse fine de la variabilité des génomes. En utilisant la méthode la plus discriminante : la séparation électrophorétique en gels pulsés de longs fragments d'ADN (FIGE), Gasc a montré que les souches françaises de type 9V résistantes ont pratiquement toutes la même origine car leurs profils sont très similaires voire indiscernables [48]. Elles partagent ce profil avec des souches espagnoles, isolées avant les françaises, ce qui suggère une migration rapide de ces souches de l'Espagne vers la France. Mais le plus intéressant est que les souches sensibles, de ce même type 9V, sont aussi homogènes et appartiennent à la même famille que les souches résistantes. L'origine clonale n'est donc pas nécessairement due à l'utilisation des β -lactamines, mais un événement préalable pourrait avoir donné des lignées 9V sensibles puis résistantes. Voilà ouvertes de nouvelles perspectives et de nouvelles questions posées. Quel est l'avantage sélectif? Comment se propagent les pneumocoques? Etc.

Conclusion

Le pneumocoque a souvent été à l'origine de concepts fondamentaux de la génétique : l'ADN support de l'hérédité, la recombinaison par l'intermédiaire d'ADN hybride avec casure et réunion, la réparation des bases mal appariées, les processus antimutagènes, sans oublier les propriétés immunogènes et de virulence des polysaccharides capsulaires. L'origine de ces découvertes repose sur une observation inattendue ; cherchant à l'expliquer, on a posé des hypothèses et effectué les expériences susceptibles de les tester de façon critique. Le plus souvent, ces découvertes ont pu surprendre, étant peu conformes aux opinions du moment. C'est pourquoi la généralisation des concepts qui en ont découlé s'est parfois fait attendre.

La séquence du génome de pneumocoque a été obtenue par plusieurs firmes mais elle n'est toujours pas publiée. Bien que ce génome soit de pe-

tite taille (2 millions de bases) on ne connaît la fonction que d'une minorité de ses gènes; il reste donc une multitude de gènes inconnus. Beaucoup doivent appartenir à ces catégories à peine étudiées qui permettent le maintien de l'espèce dans son hôte, face aux autres bactéries et aux stress divers de l'environnement. Initialement étudié pour comprendre sa pathogénicité, le pneumocoque n'a pas encore livré son secret. Pourra-t-il encore jouer un rôle original en aidant à élucider les mécanismes de sa virulence? ■

Michel Sicard

Professeur à l'université Paul-Sabatier, Laboratoire de microbiologie et de génétique moléculaire du Cnrs, 118, route de Narbonne 31062 Toulouse Cedex, France.

RÉFÉRENCES

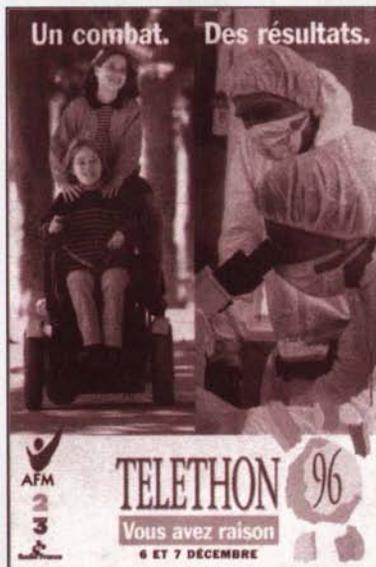
- Dubos R. *The professor, the Institute and DNA. Oswald Avery his life and scientific achievements*. New York: the Rockefeller University Press, 1976.
- Heidelberger M, Avery OT. The specific soluble substance of pneumococcus. *Proc Soc Exp Biol Med* 1923; 20: 434.
- Griffith F. The significance of pneumococcal types. *J Hygiene* 1928; 27: 113-59.
- Avery OT, MacLeod CM, McCarty M. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. Induction of transformation by a deoxyribonucleic acid fraction isolated from *Pneumococcus* type III. *J Exp Med* 1944; 79: 137-58.
- Watson JD, Crick FHC. The structure of DNA. *Nature* 1953; 171: 737-8.
- McCarthy M. *The transforming principle. Discovering that genes are made of DNA*. New York, London: WW Norton and Co, 1985.
- Hotchkiss RD. The identification of nucleic acids as genetic determinants. *Ann NY Acad Sci* 1979; 325: 321-42.
- Éphrussi-Taylor H. Transformations allogènes du pneumocoque. *Exp Cell Res* 1951; 2: 589-607.
- Fox M. Fate of transforming deoxyribonucleate following fixation by transformable bacteria. *Nature* 1960; 187: 1004-6.
- Lacks S. Molecular fate of DNA in genetic transformation of *Pneumococcus*. *J Mol Biol* 1962; 5: 119-31.
- Lefèvre JC, Gasc AM, Burger AC, Mostachfi P, Sicard AM. Hyperrecombination at a specific DNA sequence in pneumococcal transformation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 5184-8.
- Lieb M. Specific mismatch correction in bacteriophage lambda crosses by very short patch repair. *Mol Gen Genet* 1983; 191: 118-25.
- Auk G, Cabrera M, Miller JH, Modrich P. *Escherichia coli* mutY gene product is required for specific A/G → C/G mismatch correction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 9163-6.
- Lu AL, Chang DY. A novel nucleotide excision repair for the conversion of an A/G mismatch to C/G base pairs in *E. coli*. *Cell* 1988; 54: 805-12.
- Pasta F, Sicard AM. Exclusion of long heterologous insertions and deletions from the pairing synopsis in pneumococcal transformation. *Microbiology* 1996; 142: 695-705.
- Sicard AM. A new synthetic medium, and its use for the study of reciprocal transformation at the *amiA* locus. *Genetics* 1965; 50: 31-44.
- Sicard AM, Éphrussi-Taylor H. Genetic recombination in DNA-induced transformation of *Pneumococcus* I. The problem of relative efficiency of transforming factors. *Genetics* 1965; 51: 455-75.
- Lacks S. Integration efficiency and genetic recombination in pneumococcal transformation. *Genetics* 1966; 53: 207-35.
- Éphrussi-Taylor H. On the biological functions of deoxyribonucleic acid. In: Hayes W, Clowes RC eds. *Microbiology Genetics*. Cambridge: Cambridge University Press, 1960: 132-54.
- Boyce RP, Howard-Flanders P. Release of ultra-violet light-induced thymine dimers from DNA in *E. coli* K12. *Proc Natl Acad Sci USA* 1964; 51: 293-300.
- Setlow RB, Carrier WL. The disappearance of thymine dimers from DNA; an error-correcting mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 1964; 51: 226-31.
- Éphrussi-Taylor H, Gray TC. Genetic studies of recombining DNA in pneumococcal transformation. *J Gen Physiol* 1966; 49: 211-31.
- Louarn JM. *Étude de la recombinaison génétique chez Diplococcus pneumoniae*. Thèse de sciences, Toulouse, 1970.
- Tiraby G. *Étude des mécanismes responsables des efficacités de transformation chez Diplococcus pneumoniae*. Thèse de spécialité, Toulouse, 1971.
- Lacks S. Mutants of *Diplococcus pneumoniae* that lack deoxyribonucleases and other activities possibly pertinent to genetic transformation. *J Bacteriol* 1970; 101: 373-83.
- Tiraby G, Fox M. On the mechanism of the hex function in mutation and transformation of pneumococcus. In: Grell R. ed. *Mechanisms of recombination*. New York: Plenum Press, 1973: 225-36.
- Guild WR, Shoemaker NB. Mismatch correction in pneumococcal transformation: donor length and hex-dependent marker efficiency. *J Bacteriol* 1976; 125: 125-35.
- Lefèvre JC, Claverys JP, Sicard AM. Donor deoxyribonucleic acid length and marker effect in pneumococcal transformation. *J Bacteriol* 1979; 138: 80-6.
- Green D, Ravin A. A host-specific variation affecting relative frequency of transformation of two markers in *Pneumococcus*. *Exp Cell Res* 1959; 18: 466-80.
- Claverys JP, Méjean V, Gasc AM, Galibert F, Sicard AM. Base specificity of mismatch repair in *Streptococcus pneumoniae*: relationship between base mismatches and transforming efficiencies. *Nucleic Acids Res* 1981; 9: 2267-80.
- Gasc AM, Garcia P, Baty D, Sicard AM. Mismatch repair during pneumococcal transformation of small deletions produced by site-directed mutagenesis. *Mol Gen Genet* 1987; 210: 369-72.
- Lacks SA, Dunn JJ, Greenberg B. Identification of base mismatches recognized by the heteroduplex-DNA-repair system of *Streptococcus pneumoniae*. *Cell* 1982; 31: 327-35.
- Lu AL, Clark S, Modrich P. Methyl-directed repair of DNA base-pair mismatches *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80: 4639-43.
- Tiraby G, Sicard AM. Integration efficiencies of spontaneous mutant alleles of *amiA* locus in pneumococcal transformation. *J Bacteriol* 1973; 116: 1130-5.
- Pakula R, Walczak KW. On the nature of competence of transformable streptococci. *J Gen Microbiol* 1963; 31: 125-33.
- Havarstein LS, Coomaraswamy G, Morrison DA. An unmodified heptadecapeptide pheromone induces competence for genetic transformation in *Streptococcus pneumoniae*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 11140-4.
- Lacks S, Greenberg B. A deoxyribonuclease of *Diplococcus pneumoniae* specific for methylated DNA. *J Biol Chem* 1975; 250: 4060-6.
- Gasc AM, Sicard N, Claverys JP, Sicard AM. Lack of SOS repair in *Streptococcus pneumoniae*. *Mut Res* 1980; 70: 157-65.
- Hotchkiss R. Transfer of penicillin resistance in pneumococci by the deoxyribonucleate derived from resistant cultures. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* 1951; 16: 457-61.

RÉFÉRENCES

40. Hakenbeck R, Tarpay M, Tomasz A. Multiple changes in penicillin-binding proteins in penicillin-resistant clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1980; 17: 364-71.
41. Spratt B. Hybrid penicillin-binding proteins in penicillin-resistant strains of *Neisseria gonorrhoeae*. *Nature* 1988; 332: 173-6.
42. Dowson C, Hutchison A, Brannigan J, George R, Hansman D, Linares J, Tomasz A, Smith J, Spratt B. Horizontal transfer of penicillin-binding genes in penicillin-resistant clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 8842-6.
43. Laible G, Hakenbeck R. Penicillin-binding proteins in beta-lactam-resistant laboratory mutants of *Streptococcus pneumoniae*. *Mol Microbiol* 1987; 1: 355-63.
44. Seroude L, Hespert S, Selakovitch-Chenu L, Gasc AM, Lefrançois J, Sicard M. Genetic studies of cefotaxime resistance in *Streptococcus pneumoniae*: relationship to transformation deficiency. *Res Microbiol* 1993; 144: 389-94.
45. Laible G, Hakenbeck R, Sicard AM, Joris B, Ghuysen JM. Nucleotide sequences of the pbpX genes encoding the penicillin-binding proteins 2x from *Streptococcus pneumoniae* R6 and a cefotaxime-resistant mutant C506. *Mol Microbiol* 1989; 3: 1337-48.
46. Selakovitch-Chenu L, Seroude L, Sicard AM. The role of penicillin-binding protein 3 (PBP3) in cefotaxime resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Mol Gen Genet* 1993; 293: 77-80.
47. Guenzi E, Gasc AM, Sicard AM, Hakenbeck R. A two-component signal-transducing system is involved in competence and penicillin susceptibility in laboratory mutants of *Streptococcus pneumoniae*. *Mol Microbiol* 1994; 12: 505-15.
48. Gasc AM, Giammarinaro P, Richter S, Messer W, Sicard AM. Structural organization of the *Streptococcus pneumoniae* chromosome and relatedness of penicillin-sensitive and -resistant strains in serogroup 9. *Microb Drug Resist* 1997 (sous presse).

TIRÉS À PART

M. Sicard.



10^e Téléthon : 373 056 714 francs Thérapie génique : l'AFM s'engage résolument sur le chemin du « gène-médicament »

Les 6 et 7 décembre derniers, au terme de trente heures de fête dans toute la France, le 10^e Téléthon, organisé par l'AFM en collaboration avec France Télévision et Radio France, affichait un nouveau record de promesses de dons (1).

96 % des promesses ont été tenues ! Le Téléthon 96 recueille finalement la somme totale de : **373 056 714 francs** (2). Dans un contexte préoccupant pour le monde associatif, ce résultat témoigne de la confiance de la population pour l'AFM et de la **fidélité** du grand public à cette grande fête de la solidarité.

Grâce à cette confiance renouvelée, l'AFM dispose des moyens pour poursuivre son combat pour l'utilisation du « gène-médicament », une révolution médicale qui bénéficiera aussi bien aux maladies génétiques qu'aux maladies infectieuses ou aux cancers...

Après les cartes du génome, **Généthon**, le centre de recherche créé par l'AFM, se lance dans cette **nouvelle aventure**. Tête d'un réseau national qui s'étend de Nantes à Marseille, son laboratoire de vectorologie impulse une dynamique nouvelle pour la mise au point des outils de thérapie génique : les « vecteurs » qui permettront d'acheminer le gène-médicament au cœur des cellules malades.

En attendant les thérapies, l'AFM poursuit son action quotidienne pour **la citoyenneté des personnes handicapées** : nouvelles solidarités, nouvelles prises en charge, nouvelle législation... l'AFM construit en 1997 un projet de société autour de la personne malade.

Rendez-vous, les 5 et 6 décembre 97, pour le 11^e Téléthon

(1) 388 225 047 francs.

(2) Dons effectués par téléphone, minitel ou Internet + manifestations + partenaires.
Résultat du Téléthon 95 : 372 millions de francs ; taux de concrétisation : 97 %.



Contact Presse :

Emmanuelle Guiraud & Marie-Sylvie Flot/AFM - Tél. : 01.69.47.28.28
1, rue de l'Internationale - BP 59 - 91002 Évry Cedex

